

POOR LEGIBILITY

ONE OR MORE PAGES IN THIS DOCUMENT ARE DIFFICULT TO READ  
DUE TO THE QUALITY OF THE ORIGINAL

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Heidelberg  
(Direktor: Prof. Dr. O. EICHLER)

## Über Ausscheidung und Stoffwechsel von Perchlorat gemessen mit $^{36}\text{ClO}_4$ \*

Von

OSKAR EICHLER und EBERHARD HACKENTHAL

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. April 1962)

Nach ersten Untersuchungen von ROST (1897) zur Pharmakologie des Perchlorats erfolgten die weiteren Studien über diese Substanz einige Jahrzehnte später (EICHLER 1929/30). In diesen Experimenten erfolgte eine Einordnung des Anions in die Hofmeistersche Reihe und damit wurde zugleich auf die Ähnlichkeit mit Rhodanid im allgemeinen Vergiftungsbild hingewiesen. Die Analogie wurde dann in einer Monographie (EICHLER 1950) durch alle Reiche der belebten Natur verfolgt und die Verwendung gerade dieser beiden Anionen als Sonde zur Prüfung physikochemischer Funktionen im Lebendigen angeregt: Denn beide Anionen gleichen sich in ihrem Hofmeister-Effekt, aber nur Rhodanid besitzt die Fähigkeit zur Komplexbildung z. B. mit Cu und Zn.

Ein neues Interesse gewann die Pharmakologie des Perchlorats neben Rhodanid durch die Befunde von WYNGAARDEN u. Mitarb. (1952), daß  $\text{ClO}_4^-$  und Rhodanid beide in der Lage sind, in der Schilddrüse aufgefangenes anorganisches Jodid zu verdrängen oder die Aufnahme zu verhindern, ein Befund, der erst durch die Einführung von Radiojod in die Forschung ermöglicht wurde.

Dieselbe Reaktion ließ sich überall da wiederfinden, wo Jodid aus dem Blut spezifisch aufgenommen wird: Speicheldrüsen (ROWLANDS u. Mitarb. 1953/54), Magen (HALMI u. Mitarb. 1956), Trachealdrüsen (EICHLER u. SEBENING 1959; EICHLER, KRÜGER u. FINZER 1961). Beide Anionen, sowohl  $\text{SCN}^-$  als auch  $\text{ClO}_4^-$  wirken durch kompetitive Verdrängung des anorganischen Jodids und diese Wirkung schien nach den physikochemischen Gesetzmäßigkeiten eindeutig und klar. Aus verschiedenen Gründen gilt das Problem aber noch nicht als gelöst. Es ist hier nicht der Ort, alle Schwierigkeiten dieses Problems zu diskutieren. Doch auf einige Punkte soll hingewiesen werden, weil von ihnen die

\* Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft mit Geldmitteln zur Beschaffung von Isotopen und Meßgeräten und durch die Strebels-Stiftung für Krebs- und Scharlachforschung durch Besoldung von Hilfskräften unterstützt.

21942

jetzigen Untersuchungen ausgingen. Rhodanid wird in der Schilddrüse zersetzt und auch angereichert. Geschieht das auch mit  $\text{ClO}_4^-$ ?

Neben eigenen Ausscheidungsversuchen beim Mensch und Kaninchen (EICHLER 1929) stehen die von DURAND (1938) und vor allem ANBAR u. Mitarb. (1959). Alle haben dasselbe Ergebnis, nämlich daß Perchlorat durch die Nieren unzersetzt ausgeschieden wird, wie es nach den chemischen Eigenschaften (gegenüber  $\text{ClO}_3^-$ ) zu erwarten wäre. Die letzten Autoren verwenden zwar auch schon  $^{36}\text{Cl}$ -markiertes Perchlorat, aber trotzdem bedürfen die Versuche einer Ergänzung nach verschiedener Richtung, wie sie in dieser Arbeit begonnen wird. Vor allem ist die Frage der Zersetzung hier leicht zu klären.

#### Chemische Methodik

Wir erhielten das  $^{36}\text{Cl}$  (Beta-Strahler 0,714 MeV, Halbwertszeit  $3 \cdot 10^5$  Jahre) aus Amersham leider mit geringer spezifischer Aktivität (200  $\mu\text{C}$  in 4 ml 1,87 n HCl). Die Herstellung des  $\text{ClO}_4^-$  erfolgte in üblicher Weise über  $\text{ClO}_3^-$ , das durch Elektrolyse erzeugt wurde. Das Präparat war nicht rein, sondern enthielt sowohl  $\text{Cl}^-$  als  $\text{ClO}_3^-$ . Die papierchromatographische Prüfung mit anschließender Auswertung durch Methandurchflußzählrohr ist hier nicht weiter darzustellen.

Zur Reinigung des Perchlorats wurde das  $\text{ClO}_3^-$ , durch  $\text{H}_2\text{SO}_3$  reduziert. Das Chlorid wurde mit reichlichem Überschuß an  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  gefällt, das  $\text{SO}_4^{2-}$  anschließend mit  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  gefällt und die Kationen  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Na}^+$  und  $\text{Ba}^{++}$  mit Dowex 50 X 8 Siebzahl 100–200 mesh p.a. beseitigt, wie die anschließende Prüfung mit  $\text{SO}_4^{2-}$  auf  $\text{Ba}^{++}$  mit  $\text{Cl}^-$  auf  $\text{Ag}^+$  und  $\text{AgNO}_3$  auf  $\text{Cl}^-$  ergab.

Da unsere Perchloratausgangslösung mit Sicherheit frei von  $^{36}\text{Cl}^-$  sein mußte, um in den Versuchen gefundenes  $^{36}\text{Cl}^-$  auf reduziertes Perchlorat beziehen zu können, seien die Prinzipien der Reinheitsbestimmung ausführlicher dargestellt, zumal da bei der Aufarbeitung der Urine auf  $^{36}\text{Cl}^-$  auch nach demselben Verfahren wurde.

Zum Perchlorat oder der Urinprobe wurde inaktives  $\text{NaCl}$  zugesetzt und mit  $\text{AgNO}_3$  im Überschuß gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und gewaschen, anschließend mit  $\text{NH}_4\text{OH}$  gelöst. Zu der Lösung wird inaktives  $\text{NaClO}_4$  zugesetzt, um etwa eingeschlossenes aktives Perchlorat zu verdünnen. Erneute Ausfällung des Chlorids als  $\text{AgCl}$ , waschen, ammoniakalisch lösen, nochmals Zusatz von  $\text{ClO}_4^-$  mit anschließender Fällung. Die Fällungen bleiben stets einige Stunden im Dunkeln stehen.

Der jetzt erhaltene Niederschlag wurde wieder in  $\text{NH}_4\text{OH}$  gelöst und im Flüssigkeitszählrohr gemessen. Jedes Präparat wurde je 30 min im Wechsel mit je 30 min Nulleffekt gemessen. Bei der Stammlösung fand der Wechsel 16 mal bei der Analyse des Urins je 7 mal statt. Unter diesen Bedingungen wurde festgestellt daß unsere Perchlorat-Ausgangslösung radiochemisch rein war, jedenfalls hielt sich eine eventuelle Verunreinigung mit  $^{36}\text{Cl}^-$  unter 1:15000 (bezogen auf die Impulsraten).

#### Methodik des Tierversuchs

Ausscheidungsverlauf. Als Versuchstiere dienten Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts von 250–400 g Gewicht. Diese wurden 36 Std vor Versuchsbeginn und während des Versuches zu je 2 Tieren in Diuresekäfigen gehalten, die aus einem Glaszylinder bestanden, der unten trichterförmig verengt war. Die Versuchstiere

565 (1962)

Feidelberg

## Perchlorat

Pharmakologie  
diese Substanz  
Experimenten  
sche Reihe und  
im allgemeinen  
in einer Mono-  
Natur verfolgt  
Sonde zur Prü-  
egt: Denn beide  
nur Rhodanid  
und Zn.  
Perchlorats neben  
urb. (1952), daß  
Schilddrüse auf-  
e Aufnahme zu  
g von Radiojod

wo Jodid aus  
(ROWLANDS u.  
Trachealdrüsen  
ER 1961). Beide  
ompetitive Ver-  
schieden nach den  
klar. Aus ver-  
als gelöst. Es ist  
zu diskutieren.  
von ihnen die

nschaft mit Geld.  
urch die Strebel  
von Hilfskräften

säßen auf einem grobmassigen V2A-Stahlsieb. Zum Abtanzen des Kotes diente ein zweites feinnaschiges, kleines V2A-Stahlsieb, durch das der Harn in den Meßzylinder laufen konnte. Die Harns wurden jeweils 1,5, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60 Std. nach der Injektion entnommen. Dazu wurden die Ratten jedesmal in einen sauberen, gleichartigen Käfig umgesetzt, nachdem durch Palpation der Blase möglichst quantitativ der Harn für den jeweiligen Zeitabschnitt gewonnen war. Das für den einzelnen Zeitabschnitt gewonnene Harvolumen wurde abgelesen und dann der Käfig mit Aqua dest. nachgespült, bis die Harnmenge auf ca. 50 ml aufgefüllt war. Die Fütterung geschah mit Milchgrießbrei, mit dem 5 mg NaCl/Tier/Tag zugeführt wurden. Reichte die Futtermenge nicht aus, so wurde salzfreier Brei zugefüttert. Diese Art der Fütterung erwies sich als günstig, da hiermit eine gleichmäßige, ausreichende Harnmenge erreicht wurde und zudem eine definierte NaCl-Zufuhr gewährleistet war. Die so gewonnenen Ausscheidungsfraktionen werden direkt im Flüssigkeitszählrohr FHZ 44 mit dem Zählgerät FH 49 und Zeitdrucker FH 449 auf ihre Radioaktivität gemessen. Als Vergleich diente eine Standardlösung, die 27,25  $\gamma$  NaClO<sub>4</sub>/ml enthielt. Zur Bestimmung des Nulleffektes war das Zählrohr mit Aqua dest. gefüllt, da die Bestimmung des spezifischen Gewichtes (mit Eintauchspindel) der Harnlösungen einen immer unter 1,015 liegenden Wert ergab, so daß keine Korrektur der Nulllösung in bezug auf die Dichte notwendig war. Zur Bestimmung des <sup>36</sup>Cl<sup>-</sup> wurde wie oben verfahren.

**Injektionslösungen.** Zur Prüfung des Ausscheidungsverlaufes wählten wir folgende Dosierungen: 0,2 mg/100 g Ratte; 1,0 mg/100 g Ratte; 6,0 mg/100 g Ratte. Um eine Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch unterschiedliche Injektionsvolumina und verschieden konzentrierte Lösungen zu vermeiden, verwendeten wir bei der Dosierung 6 mg/100 g isotonische Lösungen von Natriumperchlorat, die bei den anderen Dosierungen durch Verdünnung mit isotonischer NaCl-Lösung auf das gleiche Injektionsvolumen pro 100 g Ratte gebracht wurden. Ebenso verfahren wie bei gleichzeitiger Injektion von Perchlorat und Jodid bzw. Perchlorat und Rhodanid.

Zusammenstellung der verwendeten Injektionslösungen:

a) 6,0 mg NaClO <sub>4</sub> /100 g	Volumen 0,55 ml/100 g
b) 1,0 mg NaClO <sub>4</sub> /100 g + 2,43 mg NaCl/100 g	Volumen 0,55 ml/100 g
c) 0,2 mg NaClO <sub>4</sub> /100 g + 2,82 mg NaCl/100 g	Volumen 0,55 ml/100 g
d) 0,2 mg NaClO <sub>4</sub> /100 g + 1,32 mg NaSCN/100 g + 1,85 mg NaCl/100 g	Volumen 0,55 ml/100 g
e) 0,2 mg NaClO <sub>4</sub> /100 g + 2,44 mg NaJ/100 g + 1,85 mg NaCl/100 g	Volumen 0,55 ml/100 g

Die oben angegebenen Rhodanid- bzw. Jodiddosierungen entsprechen der zehnfachen molaren Dosis von 0,2 mg Perchlorat. Sämtliche Lösungen wurden subcutan injiziert.

#### Statistische Beurteilung der Versuchsergebnisse

Um aus den Ergebnissen exakte Schlüsse ziehen zu können, war eine sorgfältige statistische Auswertung notwendig. Die Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte für den Vergleich der Ausscheidungskurven auf zweifache Weise: Einmal wurde die Signifikanz der Mittelwertdifferenz

zeitlich zusammengehöriger Ausscheidungsperioden für je zwei verschiedene Dosierungen geprüft. Als Prüfgröße  $Q$  diente der Quotient aus der Mittelwertdifferenz und der Streuung der Mittelwertdifferenz (GEBELEIN u. HEITE). Für den Quotienten  $Q$  kann die Wahrscheinlichkeit für zufallsbedingte Abweichung aus den Tabellen für die  $t$ -Verteilung von PEARSON entnommen werden.

Da aber in den Ausscheidungskurven ein systematischer Gang zu erkennen ist, d. h. eine gegenseitige Stützung der Ausscheidungswerte für eine Dosierung vorhanden ist, wurde als zweites Verfahren der statistische Vergleich der beiden gesamten Kurven untereinander durchgeführt, und zwar nach dem von GEBELEIN u. RUHENSTROTH-BAUER (1952) angegebenen dritten Verfahren. Als Prüfgröße  $z$  dient hier die Quadratsumme der Mittelwertdifferenzen, die durch geeignete Normierung, nämlich durch Division mit der Quadratsumme der für die beiden Kurven berechneten Streuung der Mittelwerte, in einer  $\chi^2$ -Verteilung überführt werden.

Da bei dem von GEBELEIN u. RUHENSTROTH-BAUER angegebenen Verfahren für alle Kollektive beider zu vergleichender Kurven die gleiche Streuung der Kollektive vorausgesetzt wird, dies aber bei unseren Versuchen nicht zutrifft (die Streuung in den ersten Stunden der Ausscheidung ist erheblich größer als später) haben wir die Berechnung der Streuung der Mittelwerte etwas modifiziert, indem wir zunächst für alle betrachteten Kollektive die gemeinsame Streuung berechnet haben, um daraus die jeweilige Streuung der Mittelwerte zu entnehmen.

### Ergebnisse

Den Verlauf der ersten Versuche mit verschiedenen Dosen geben wir auf Abb. 1 wieder, wo die ausgeschiedenen Mengen als Prozent der gegebenen Dosis berechnet sind. Innerhalb 60 Std wurden 93,4–97,4% der Gabe ausgeschieden ohne prinzipiellen Unterschied. Innerhalb der drei Dosierungen wird also praktisch alles im Urin wiedergefunden. In der Geschwindigkeit der Ausscheidung gibt es allerdings den Unterschied, daß die Ausscheidung bei höheren Dosen rascher erfolgt (Abb. 1).

Die Signifikanz der Unterschiede, die natürlich nur für die ersten 24 Std wichtig ist, wird auf Tab. 1 wiedergegeben, wobei die Werte für  $P$  über den bekannten Signifikanz-Quotienten  $Q$  Punkt für Punkt gewonnen

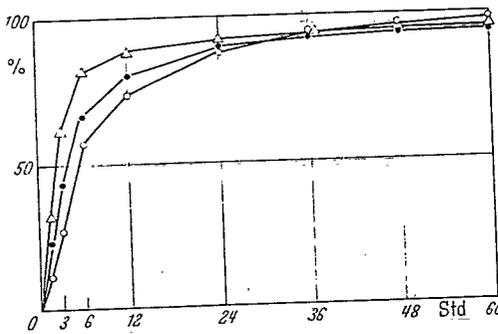


Abb. 1. Ausscheidungsverlauf nach verschiedenen Dosierungen von  $\text{NaClO}_4$ . Summenkurven.  $\circ$ — $\circ$  0,2 mg/100 g;  $\bullet$ — $\bullet$  1,0 mg/100 g;  $\Delta$ — $\Delta$  6 mg/100 g. Mittelwerte von je  $8 \times 2$  Tieren, bei der Dosierung 6 mg/100 g  $10 \times 2$  Tiere

n des Kotes diente  
Harn in den Meß-  
. 24, 36, 48, 60 Std  
esmal in einen sauer-  
der Blase möglichst  
n war. Das für den  
esen und dann der  
0 ml aufgefüllt war  
Tier/Tag zugeführt  
ier Brei zugefüttert.  
eine gleichmäßige,  
inierte NaCl-Zufuhr  
n werden direkt im  
Zeitdrucker FH 449  
Standardlösung, die  
s war das Zählrohr  
Gewichtes (mit Ein-  
genden Wert ergab,  
notwendig war. Zur

verlaufes wählten  
mg/100 g Ratte;  
nsergebnisse durch  
len konzentrierte  
sierung 6 mg/100 g  
len anderen Dosie-  
ng auf das gleiche  
Ebenso verfahren  
l Jodid bzw. Per-

ungen:

men 0,55 ml/100 g  
men 0,55 ml/100 g  
men 0,55 ml/100 g  
men 0,55 ml/100 g

ungen entsprechen  
Sämtliche Lösun-

bnisse

u können, war eine  
uswertung der Ver-

eidungskurven auf  
Mittelwertdifferenz

Tabelle 1. Statistischer Vergleich der Ausscheidungskurven nach verschiedenen Dosierungen von  $\text{NaClO}_4$

Linke Spalten: Signifikanz der Mittelwertdifferenzen für die einzelnen Ausscheidungsperioden. Rechte Spalten: Statistischer Vergleich der Ausscheidungskurven nach RUHENSTROTH-BAUER, wobei alle Ausscheidungspunkte der verglichenen Kurven bis zu der in der Zeitspalte angegebenen Ausscheidungsperiode der Berechnung zugrunde gelegt wurden. Zeit in Stunden nach Injektion

Zeit	Vergleich 6 mg/100 g u. 1 mg/100 g		Vergleich 6 mg/100 g u. 0,2 mg/100 g		Vergleich 1 mg/100 g u. 0,2 mg/100 g	
	$p < 0,2$	—	$p < 0,01$	—	$p < 0,1$	—
1,5	$p < 0,02$	—	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,01$
3	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,3$	$p < 0,01$
6	$p < 0,01$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,001$	$p < 0,2$	$p < 0,01$
12	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p < 0,05$	$p < 0,001$	$p > 0,3$	$p < 0,01$

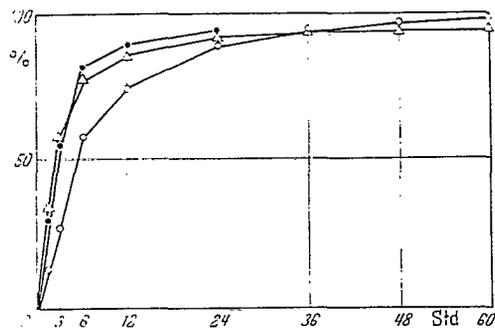


Abb. 2. Ausscheidungsverlauf von Natriumperchlorat bei gleichzeitiger s.c. Injektion von Jodid bzw. Rhodanid. Summenkurven.  $\circ$ — $\circ$  0,2 mg  $\text{NaClO}_4/100$  g;  $\Delta$ — $\Delta$  0,2 mg  $\text{NaClO}_4 + 2,44$  mg  $\text{NaJ}/100$  g;  $\bullet$ — $\bullet$  0,2 mg  $\text{NaClO}_4 + 1,32$  mg  $\text{NaSCN}/100$  g. Je 8  $\times$  2 Tiere

Tabelle 2. Statistischer Vergleich der Ausscheidungskurven nach alleiniger Gabe von  $\text{NaClO}_4$  und einem Gemisch aus  $\text{NaClO}_4$  mit Jodid bzw. Rhodanid

Signifikanz der Mittelwertdifferenzen. Zeit in Stunden nach Injektion. Dosierungen siehe Text

Zeit	Vergleich	
	$\text{NaJ} + \text{NaClO}_4$ mit $\text{NaClO}_4$ allein	$\text{NaSCN} + \text{NaClO}_4$ mit $\text{NaClO}_4$ allein
1,5	$p < 0,001$	$p < 0,01$
3	$p < 0,001$	$p < 0,001$
6	$p < 0,01$	$p < 0,01$
12	$p < 0,01$	$p < 0,01$
24	$p > 0,05$	$p > 0,05$

wurden. Schon jetzt zeigt sich ein eindeutiger Unterschied zwischen 0,2 und 6 mg/100 g. Die bessere Brauchbarkeit des Verfahrens nach GEBELEIN u. RUHENSTROTH-BAUER zur Auswertung eines fortlaufend beobachteten Prozesses zeigt sich auf den danebenstehenden Werten der Tab.1, nach der die Unterschiede selbst zwischen den beiden kleineren Dosen noch als gut signifikant anzusprechen sind (Tab.1).

Die Resultate nach Mischungen von Perchlorat mit Jodid und Rhodanid gibt die Abb.2 wieder. Durch Ersatz eines Teiles der  $\text{Cl}^-$  Ionen durch  $\text{J}^-$  bzw.  $\text{SCN}^-$  wird die Ausscheidung von  $\text{ClO}_4^-$  beschleunigt, wobei dessen Gesamtausscheidung im Urin unverändert bleibt. Beide Anionen wirken etwa gleich.

ENTHALT:

kurven nach verschiedenen

für die einzelnen Ausscheidungskurven der Ausscheidungskurvenpunkte der verglichenen Ausscheidungsperiode der Berechnungen nach Injektion

mg	Vergleich	
	1 mg/100 g u. 0,2 mg/100 g	
	$p < 0,1$	—
001	$p < 0,05$	$p < 0,01$
001	$p < 0,3$	$p < 0,01$
001	$p < 0,2$	$p < 0,01$
001	$p > 0,3$	$p < 0,01$

en. Schon jetzt zeigt ein eindeutiger Unterschied zwischen 0,2 und 1/100 g. Die bessere Veranschaulichbarkeit des Verens nach GEBELEIN u. ENSTROTH-BAUER zur Wertung eines fortwährend beobachteten Prozents zeigt sich auf den bestenstehenden Werten Tab.1, nach der die Unterschiede selbst zwischen beiden kleineren Dosen als gut signifikant sprechen sind (Tab.1).

Die Resultate nach Messungen von Perchlorat Jodid und Rhodanid siehe Abb.2 wieder. Durch Vergleich eines Teiles der  $\text{Cl}^-$  durch  $\text{J}^-$  bzw.  $\text{SCN}^-$

die Ausscheidung von  $\text{Cl}^-$  beschleunigt, wobei die Gesamtausscheidung unverändert bleibt. Die Anionen wirken etwa

Die Tab.2 gibt die Signifikanz der Unterschiede wieder, die hier schon durch die Berechnung des einfachen  $Q$  ausreichend dargetan wurde. Die Ausscheidung verläuft nur geringfügig langsamer als bei 6 mg  $\text{ClO}_4^-$  der ersten Abbildung.

Ausscheidung von  $^{36}\text{Cl}^-$  im Urin. Das Reduktionsproblem des Perchlorates in vivo wurde von ANBAR, GUTMAN u. LEWITUS mit  $^{36}\text{Cl}$ -Perchlorat beim Menschen untersucht. Die Autoren fanden 3 Std nach oraler Applikation von 200 mg  $^{36}\text{Cl}$ -Perchlorat im Harn eine auf Chlorid zu beziehende Aktivität, die etwa 1/1000 der in der gleichen Zeit ausgeschiedenen Perchloraktivität entsprechen. Dieser Wert von 1/1000 kann nach Angaben der Autoren auch vorgetäuscht sein durch mangelhafte chemische Eliminierung von Perchlorat aus der Probe oder Verunreinigung schon der Ausgangslösung mit radioaktivem  $\text{KCl}$ . Die von den Autoren gezogene Schlußfolgerung, daß Perchlorat im menschlichen Organismus, wenn überhaupt, dann höchstens zu 1/100 reduziert wird, ist nicht zulässig, da hierbei vorausgesetzt wird, daß das etwa entstehende Chlorid mit der gleichen Geschwindigkeit im Harn erscheint, wie das Perchlorat. Dies trifft aber nicht zu. Zwar ist die Ausscheidungsgeschwindigkeit einzelner zugeführter Chloriddosen bisher nicht bestimmt worden. Jedoch kann aus Vergleichen mit Bromid (verschiedene Autoren; zit. bei EICHLER 1950) geschlossen werden, daß erst nach einigen Tagen die Hälfte einer einmaligen Chloridgabe mit dem Harn ausgeschieden wird (Urinhalbwertszeit). Der von ANBAR u. Mitarb. (1959) untersuchte Zeitraum von 3 Std war also zu klein.

Wir wählten deshalb in unseren Versuchen eine Beobachtungsdauer von 60 Std. Vier Tiergruppen zu je zwei Tieren erhielten 6 mg  $\text{NaClO}_4/100$  g Gewicht. Der Urin wurde in drei Portionen gesammelt (— 12, — 36, — 60 Std) und nach dem im methodischen Teil beschriebenen Verfahren bearbeitet.

Die in diesem Zeitraum gefundene  $^{36}\text{Cl}$ -Chlorid-Ausscheidungswerte lagen im Bereich der statistischen Streuung des Nullwertes trotz langer Messung. Als obere Grenze der in diesem Zeitraum ausgeschiedenen  $^{36}\text{Cl}$ -Chloridaktivität kann eine Menge von ca. 1:5000 der gegebenen Perchloraktivität berechnet werden. Bezogen auf eine angenommene Urinhalbwertszeit des Chlorids von ca. 5 Tagen würde dies eine Perchloratreduktion von weniger als 1:1000 der gegebenen Menge bedeuten.

#### Diskussion

Die Geschwindigkeit der Ausscheidung von Perchlorat wird ebenso wie die jeder unzersetzten ausgeschiedenen Substanz von der Verteilungsgeschwindigkeit im Organismus und dem Eindringungsvermögen in die Organe abhängen. Unter Berücksichtigung der Gesetzmäßigkeit der Anionen, meist extracellulär zu bleiben, werden wir von dieser Seite keine

wesentlichen Störungen erwarten dürfen. Eine Ausnahme macht die spezielle Aufnahme in Organe wie die Schilddrüse, die eine Speicherkapazität besitzt wie für Jodid, die aber anteilmäßig erst bei sehr viel kleineren Dosierungen, als den von uns verwandten, eine Rolle spielt. Zudem erreicht die Anreicherung des Perchlorats in der Schilddrüse in den Versuchen von ANBAR u. Mitarb. (1959) ihr Maximum nach 6 bis 8 Std, wo der größte Teil der Perchlorats schon ausgeschieden ist, während das Verteilungsgleichgewicht (nach Vergleichen mit Rhodanid) nach ca. 1 Std, also schon in der ersten Beobachtungsperiode, erreicht sein wird.

Zu berücksichtigen ist weiter eine Adsorption an Plasmaeweißkörper, sie ist, für Rhodanid schon lange bekannt, jetzt auch für  $\text{ClO}_4^-$  bei Rinderplasma-Albumin nachgewiesen worden, von CARR (1952) etwa gleich stark, von KRONMAN u. FOSTER (1957) etwas schwächer als Rhodanid. Diese Befunde wurden allerdings bei  $\text{pH } 2$ , also jenseits des isoelektrischen Punktes, erhoben.

Durch diese Bindung ist die Konzentration im Primärharn geringer als im Plasma, so daß die Ausscheidung quantitativ verzögert ist. Da die Aufnahme an der Oberfläche der Plasmaeweißkörper begrenzt ist, wird der relative Anteil des so gebundenen Perchlorats mit der Steigerung der Dosis absinken. Dieser Effekt würde in der Richtung unserer Befunde liegen, ist aber zur Erklärung nicht ausreichend. Schon bei Rhodanid hat sich das Ausmaß der Rückresorption für die quantitativen Verhältnisse als weit überwiegend herausgestellt. Auch Perchlorat wird sich entsprechend seiner Stellung in der Hofmeisterschen Reihe an Oberflächen anreichern können. Wir kommen hier auf eine anschauliche Deutung der Versuche zurück, wie sie früher (O. u. L. EICHLER 1942; O. EICHLER 1950, S. 638ff.) für die Ausscheidung anderer Anionen geäußert wurde. Nach der damaligen Anschauung wurde das Schwerkraftgewicht der Erscheinungen an die Innenseite des rückresorbierenden Epithels des Nephrons gelegt. Es ist interessant, daß man bei der diuretischen Wirkung der Kohlensäureanhydratasehemmer auch einen solchen Angriffspunkt diskutiert (BERLINER u. ORLOFF 1956). Ganz gleich ob die Anionen ihre eigenen Transportmechanismus besitzen wie in manchen Drüsen, oder, wie jetzt weit überwiegend angenommen, unter Erhaltung der Elektroneutralität durch die aktiv transportierten Kationen ( $\text{Na}$ ) mitgerissen werden, muß doch der Aufenthalt an der resorbierenden Oberfläche den Rücktransport ins Blut begünstigen, eine Konkurrenz aber hemmen, also die Ausscheidung begünstigen, wie es durch  $\text{SCN}^-$  und  $\text{J}^-$  mit  $\text{ClO}_4^-$  geschieht. Die Ausscheidung von  $0,2 \text{ mg ClO}_4^-/100 \text{ g}$  wird durch diese Ionen auf die Geschwindigkeit von  $6 \text{ mg ClO}_4^-$  gesteigert. Das würde heißen, daß die Ionen  $\text{SCN}^-$  und Jodid in der gleichen molaren Menge wie  $2 \text{ mg ClO}_4^-$  etwa so wirken wie  $5,8 \text{ mg ClO}_4^-$ . Diese Verhältnisse entsprechen also nicht einer einfachen linearen Beziehung.

Im übrigen sind solche kompetitiven Ausscheidungsbegünstigungen in der Literatur wiederholt niedergelegt worden. Bekannt ist das Verhältnis Chlor und Brom, beim Hund  $\text{SCN}^-$  und  $\text{Cl}^-$  (O. EICHLER u. APPEL 1951), Jodid mit verschiedenen Anionen (O. EICHLER 1952), schließlich gelang es HALMI u. STUELKE (1956), bei der Ratte die Ausscheidung von  $^{131}\text{J}^-$  durch 200 mg  $\text{NaClO}_4$  zu beschleunigen.

Diese Befunde lassen alle die Möglichkeit einer einfachen Anregung der Diurese als Ursache offen. Dieser Frage sind wir nun besonders nachgegangen, obwohl die Dosierungen sich in Größen abspielen, die keine Bedeutung in dieser Richtung haben sollten. Wir geben die durchschnittlichen Harnvolumina auf Tab. 3 für die ersten 24 Std, die allein interessieren, wieder. Ein Zusammenhang läßt sich nicht erkennen.

Tabelle 3. Durchschnittliche Harnvolumina der einzelnen Ausscheidungsperioden (Mittelwerte von je 20 bzw. 16 Tieren)

Zeit in Stunden nach Injektion.  $r$  = Korrelationskoeffizient der Harnvolumina mit der im Organismus noch vorhandenen Perchloratmenge (gegebene— bereits ausgeschiedene Menge). Unter den Korrelationskoeffizienten die der Berechnung zugrundegelegte Zahl der Wertepaare

Zeit	$\text{NaClO}_4$ 6 mg/100 g	$\text{NaClO}_4$ 1 mg/100 g	$\text{NaClO}_4$ 0,2 mg/100 g	$\text{NaClO}_4$ 0,2 mg/100 g NaJ 2,44 mg/100 g	$\text{NaClO}_4$ 0,2 mg/100 g NaSCN 1,32 mg/100 g
	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)	(ml)
1,5	3,1	3,0	2,2	2,1	3,6
3	4,1	4,0	3,7	5,0	4,1
6	8,0	8,5	8,5	9,5	8,6
12	16,7	15,8	11,8	14,0	13,0
24	19,3	18,0	17,5	23,5	17,4
$r$	+0,096	+0,285	+0,199	+0,016	+0,295
Wertepaare	48	38	38	64	35

Wir haben unser Material noch weiter aufgearbeitet, in dem wir die Korrelationskoeffizienten zwischen der Menge des Prozentsatzes der im Organismus noch befindlichen Menge  $\text{ClO}_4^-$  und den Urinmengen ausrechneten. Damit kamen die Einzelwerte der Tiere zur Geltung. Die Resultate geben wir auf Tab. 3 unten wieder. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß eine einigermaßen gesicherte Korrelation nicht besteht, obwohl das Material doch sehr groß ist. Besonders ist hinzuweisen, daß  $r$  bei 0,2 mg  $\text{ClO}_4^-$  allein bereits eine kleine positive Korrelation von +0,2 zeigt und durch den Zusatz von NaJ sogar verkleinert ist, wenn man überhaupt solche Vergleiche zulassen will, wo man doch sagen kann, daß die Abweichung von  $r = 0$  sich stets im Bereich der Streuung befindet. Jedenfalls spielt die Diurese in den jetzigen Versuchen eine nur untergeordnete Rolle, während dieser seinerzeit bei Versuchen an Froschen (EICHLER 1930) eine wichtige Funktion zugewiesen wurde.

Bei der Anwendung des Prinzips der Konkurrenz der Anionen, die bei verschiedenen Drüsen eine große Rolle spielt, sind die quantitativen Gesetze besonders schwierig. Sie müssen sich im Rahmen der Hofmeister'schen Reihe bewegen: Je häufiger ein Ion an der resorbierenden Oberfläche zu finden ist, um so mehr muß es die Ausscheidung des Perchlorats begünstigen. Also müßte die Reihenfolge lauten:  $\text{ClO}_4 > \text{SCN}^-$ . Wir haben aber gesehen, daß ersteres schwächer wirkt als die beiden anderen, die sich ungefähr gleichen.

GIEBISCH, MCLEOD u. KAVALAR (1956) teilten, ohne eine Deutung zu geben, mit, daß die Rückresorption von Jodid um so mehr begünstigt wird, je weniger ein Ion selbst rückresorbiert wird [ $\text{Fe}(\text{CN})_6$  in ihren Versuchen]. Das Umgekehrte wäre hier anzunehmen bei  $\text{SCN}^-$ , wenn es auch bei der Ratte nicht so stark rückresorbiert wird wie beim Mensch und Hund. Nach obigen Autoren (ähnlich THEORELL 1937) erfolgt die Rückresorption von Jodid durch einfache Diffusion. Daß die Verhältnisse nicht so einfach liegen, ergaben schon frühere Versuche am Frosch (L. u. O. EICHLER 1942). Auch unsere jetzigen Befunde zeigen eine wesentliche Beeinflussung der einzelnen Anionen untereinander. Nach der heutigen Auffassung ist die Summe der rückresorbierten Anionen gegeben durch die Ladung der rückresorbierten Kationen, vor allen Dingen von Natrium. Die Verteilung der Anionen folgt besondere Gesetzen.

Bei der Auswertung unserer Resultate legten wir uns noch die Frage vor, inwieweit die Perchloratausscheidung einer einfachen Reaktion erster Ordnung folgt, wie es beim Menschen gezeigt werden konnte (EICHLER 1929). Auf halblogarithmischem Papier aufgetragen müßte sich eine Gerade ergeben. Denn die Ausscheidung müßte der allgemeinen Form folgen:

$$M_t = M_{\infty} (1 - e^{-kt}) \quad (I)$$

$M_t$  = ausgeschiedene Menge zur Zeit  $t$ ;

$M_{\infty}$  = Menge, die überhaupt verabfolgt wurde.

$$\frac{M_{\infty} - M_t}{M_{\infty}} = e^{-kt} \quad (II)$$

Auf der linken Seite steht der Ausdruck wieviel Prozent von der verabfolgten Dosis nach der Zeit  $t$  im Organismus zu finden sind. Logarithmierung dieses Ausdruckes zeigt sofort die Gerade. Im Experiment erhält man aber zur Abszisse stark konvexe Kurven.

Wenn wir aber statt  $M_{\infty}$  die Menge einsetzen, die nach 60 Std ausgeschieden wurde, also  $M_{60}$ , dann kommen wir zu einer Kurvenschar, die auf Abb. 3 wiedergegeben wurde. Jetzt entspricht der Verlauf zum überwiegenden Teil einer Geraden, außer in den ersten Stunden, in denen die Ausscheidung rascher erfolgt. Man könnte die Kurve als eine Summe von drei Exponentialfunktionen annähern, ohne daß wir davon einen besonderen Gewinn sehen. Wir wollen anderen Gedankengängen folgen.

Wir haben innerhalb der verschiedenen Geweben die Ausscheidungswirkung in der vorübergehenden Fehlfunktion der ersten Serie gerade die Analyse der geraden Linien

Für die Bindung der Plasmaglomeruli Daß die Dosis Aussch

Als die erwar

Da zur Cl unbef ein Anteilung unterli in der 35S-m

ENTHAL:

tion der Anionen, die sind die quantitativen ahmen der Hofmeister- r resorbierenden Ober- ausscheidung des Per- auten:  $\text{ClO}_4 > \text{SCN} > \text{J}$ . r wirkt als die beiden

ine Deutung zu geben, mit, t wird, je weniger ein Ion n]. Das Umgekehrte wäre ht so stark rückresorbiert (ähnlich THEORELL 1937) sion. Daß die Verhältnisse n Frosch (L. u. O. ERICLER ntliche Beeinflussung der fassung ist die Summe der ler rückresorbierten Kat- Anionen folgt besondere:

wir uns noch die Frage r einfachen Reaktion gezeigt werden konnte er aufgetragen müßte müßte der allgemeinen

(I)

(II)

el Prozent von der ver- t finden sind. Logarith- de. Im Experiment er- n.

1, die nach 60 Std aus- zu einer Kurvenschar. rricht der Verlauf zum en ersten Stunden, in te die Kurve als ein n; ohne daß wir davon leren Gedankengängen

Wir haben eben als 100% rein willkürlich die Menge gesetzt, die innerhalb von 60 Std ausgeschieden wurde. Der Rest könnte aus metho- dischen Gründen nicht zu erfassen sein. Vielleicht kann die Differenz auch darauf beruhen, daß ein Teil des Perchlorates in irgendwelchen Geweben verankert, dem Aus- scheidungsgesetz nicht unter- worfen ist (dritte Exponential- funktion). Beide Effekte würden in der verlangten Richtung liegen, aber die Differenzen auf analytische Fehler zu beziehen ist nicht an- gänglich. Diese müßten dann in den ersten Stunden vorkommen, wo gerade die größten Mengen in der Analyse zu finden sind und damit die geringsten Fehler vorkommen könnten.

Für die raschere Ausscheidung in den ersten Stunden könnte die Bindung an Plasmakolloide ver- antwortlich gemacht werden, so daß bei eventueller Sättigung ein größerer Teil des Perchlorats im Plasma frei zur Filtration in den Glomerula zur Verfügung stände. Daß dieses nicht wesentlich ist, dafür spricht die Lage des Knicks der Kurve bei den verschiedenen Dosen. Er erfolgt nach steigender Dosis bei 0,08, 0,2 und 0,4 mg Ausscheidung.

Also bleibt nur, daß Organe mit schwer beweglichem Perchlorat in den ersten Stunden geladen werden. Dieser Prozeß dauert, wie zu er- warten, bei den höheren Dosen länger.

Das zeigt, wie sehr die jetzt üblichen Angaben der Halbwertszeit zur Charakterisierung der Ausscheidung von körperfremden Substanzen unbefriedigend sein müssen. Man beachte, daß es sich bei Perchlorat um ein Anion handelt, das körperfremd mit anscheinend definierten Ver- teilungsgesetzen im allgemeinen einer ziemlich raschen Ausscheidung unterliegt. Rhodanid, das beinahe quantitativ im Harn erscheint, wird in der Schilddrüse zu einem kleinen Teil umgesetzt, wie Versuche mit  $^{35}\text{S}$  markiertem Rhodanid zeigten (WOOD u. WILLIAMS 1949). Daher

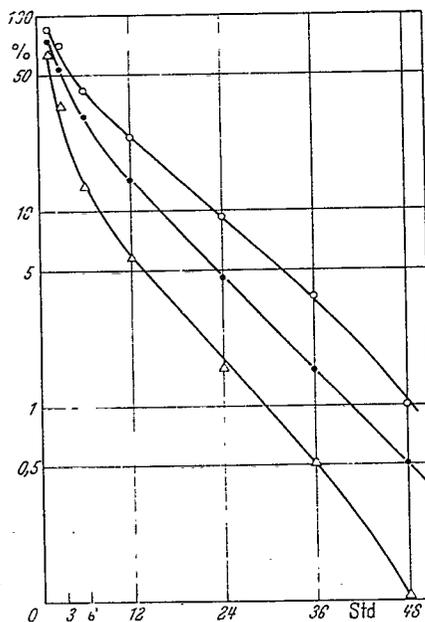


Abb. 3. Ausscheidungsverlauf von Natrium- perchlorat nach verschiedenen Dosierungen. Ordinate:  $M_{60} - M_t$  = zur Zeit  $t$  noch nicht ausgeschiedene Menge, wobei die nach 60 Std ausgeschiedene Menge als 100% eingesetzt ist. Dosierungen:  $\circ$ — $\circ$  0,2 mg/100 g;  $\bullet$ — $\bullet$  1,0 mg/100 g;  $\triangle$ — $\triangle$  6,0 mg/100 g. Zeit in Stunden nach Injektion

versuchten wir *in vitro* eine Reduktion von Perchlorat durch verschiedene Organhomogenate nachzuweisen. Zunächst positiv verlaufene Versuche wurden aber durch die Möglichkeit, daß eine bakterielle Beteiligung trotz Verwendung von Desinfektionsmitteln (Toluol und Chloroform) vorlag, in Frage gestellt. Dieses Problem wird zur Zeit bearbeitet.

#### Zusammenfassung

Es wird eine Reinigungsmethode für radioaktiv markiertes Perchlorat beschrieben.

Perchlorat wird von der Ratte in 60 Std Beobachtungszeit zu 95 bis 97% unzersetzt ausgeschieden.

Die Ausscheidung verläuft bei höheren Dosen rascher als bei kleinen, besonders in den ersten Stunden.

Die langsamere Ausscheidung bei kleinen Dosierungen kann durch Zugabe von Jodid oder Rhodanid beträchtlich beschleunigt werden. Die Werte entsprechen nicht einer einfachen Diffusion.

Es wurde gezeigt, daß für diese Unterschiede nicht eine verschiedene Diurese verantwortlich gemacht werden kann, sondern Hofmeister-Effekte dabei beteiligt sind.

#### Literatur

- ANBAR, M. S., S. GUTMAN and Z. LEWITUS: The mode of action of perchlorate ions on the iodine uptake of the thyroid gland. *Int. J. appl. Radiat.* 7, 87 (1959).
- BERLINER, R. W., and J. ORLOFF: Carbonic anhydrase inhibitors. *Pharmacol. Rev.* 8, 137 (1956).
- CARR, C. W.: Studies on the binding of small ions in protein solutions with the use of membran electrodes. I. The binding of the chloride ion and other inorganic anions in solutions of serum albumin. *Arch. Biochem.* 40, 286 (1952).
- DURAND, J.: Recherches sur l'élimination des perchlorates, sur leur répartition dans les organes et sur leur toxicité. *Bull. Soc. chim. Biol.* 20, 423 (1938).
- EDWARDS, D. A., K. FLETCHER and E. N. ROWLANDS: Antagonism between perchlorate, iodide, thiocyanate and nitrate for secretion in human saliva. *Lancet* 1954, 498.
- EICHLER, O.: Zur Pharmakologie der Perchloratwirkung. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 144, 251 (1929).
- EICHLER, O.: Zur Pharmakologie der Hofmeisterschen Reihe. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 154, 59 (1930).
- EICHLER, O.: Pharmakologie anorganischer Anionen. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1950.
- EICHLER, O., u. I. APPEL: Rhodanid als Mittel zur Untersuchung extracellulärer Räume und seine Beweglichkeit im Körper des Hundes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 212, 472 (1951).
- EICHLER, O., u. L. EICHLER: Wirkung von Natriumjodid in verschiedenen Konzentrationen auf die Ausscheidung anorganischer Substanzen beim Frosch. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 199, 39 (1942).
- EICHLER, O., u. L. EICHLER: Vergleich zwischen NaCl und NaJ in Ausscheidung und Wirkung auf die Abgabe anderer anorganischer Substanzen beim Frosch. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 199, 55 (1942).

EICHLER  
EICHLER  
ARZ  
GEBELF  
Hei  
GEBELF  
NOF  
GIEBISC  
the  
HALMI,  
in tl  
KRONM  
of b  
chau  
ROWLA  
per  
THEORI  
AR  
WOOD.  
its  
WYNG.  
the  
50,

Pharm

von Perchlorat durch ver-  
Zunächst positiv verlaufene  
eit, daß eine bakterielle Be-  
smitteln (Toluol und Chloro-  
lem wird zur Zeit bearbeitet.

radioaktiv markiertes Per-

Std Beobachtungszeit zu 95

Dosen rascher als bei kleinen,

en Dosierungen kann durch  
htlich beschleunigt werden.  
en Diffusion.

hiede nicht eine verschiedene  
kann, sondern Hofmeister-

mode of action of perchlorate ions  
J. appl. Radiat. 7, 87 (1959).  
drase inhibitors. Pharmacol. Rev.

in protein solutions with the use  
chloride ion and other inorganic  
ochem. 40, 286 (1952).

perchlorates, sur leur répartition  
chim. Biol. 20, 423 (1938).

ANDS: Antagonism between per-  
secretion in human saliva. Lancet

wirkung. Naunyn-Schmiedeberg's

rschen Reihe. Naunyn-Schmiede-  
30).

onen. Berlin, Göttingen, Heidel-

zur Untersuchung extracellulärer  
Hundes. Naunyn-Schmiedeberg's

riumjodid in verschiedenen Kon-  
ischer Substanzen beim Frosch

rmak. 199, 39 (1942).

NaCl und NaJ in Ausscheidung

nischer Substanzen beim Frosch

rmak. 199, 55 (1942).

- EICHLER, O., J. KRÜGER u. P. FINZER: In Vorbereitung.  
EICHLER, O., u. F. SEBENING: Die Anreicherung von  $^{131}\text{J}$  durch die Trachea.  
Arzneimittel-Forsch. 9, 468 (1959).  
GEBELEIN, H., u. H. J. HEITE: Statistische Urteilsbildung. Berlin, Göttingen,  
Heidelberg: Springer 1951.  
GEBELEIN, H., u. G. RUHENSTROTH-BAUER: Über den statistischen Vergleich einer  
Normalkurve und einer Prüfkurve. Naturwissenschaften 39, 457 (1952).  
GIEBISCH, G., M. B. MACLEOD and F. KAVALER: Renal excretion of radioiodide in  
the dog. Amer. J. Physiol. 187, 529 (1956).  
HALAMI, N. S., and R. C. STUELKE: Radioiodine not dischargeable with perchlorate  
in the thyroids of propylthiouracil treated rats. Endocrinology 59, 134 (1956).  
KRONMAN, M. J., and J. F. FOSTER: Sedimentation and optical rotation behavior  
of bovine plasma albumin at low pH in the presence of various anions. Effect of  
charge on molecular expansion. Arch. Biochem. 72, 205 (1957).  
ROWLANDS, E. N., A. W. EDWARDS and A. J. HONOUR: Study of the effect of  
perchlorate and thiocyanate on salivary iodide. Clin. Sci. 12, 399 (1953).  
THEORELL, T.: Kinetics of distribution of substances administered to the body.  
Arch. int. Pharmacodyn. 57, 205 (1937).  
WOOD, J. L., and E. F. WILLIAMS: The metabolism of thiocyanate in the rat and  
its inhibition by propylthiouracil. J. biol. Chem. 177, 59 (1949).  
WYNGAARDEN, J. B., B. M. WRIGHT and P. WAYS: The effect of certain anions upon  
the accumulation and retention of iodide by the thyroid gland. Endocrinology  
50, 537 (1952).

Professor Dr. O. EICHLER,

Pharmakologisches Institut der Universität, 69 Heidelberg, Hauptstraße 47/51